GETRENNTE BESTIMMUNG VON PHARMAKA UND IHREN METABOLITEN BEI DER SCINTILLATIONSMESSUNG

DAVID LESCHEM

1972

8 München 23
Clemensstraße 27
Telefon 342149

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie
(Deutsche Forschungsanstalt für Psychiatrie)
MÜNCHEN

GETRENNTE BESTIMMUNG VON PHARMAKA UND IHREN METABOLITEN BEI DER SCINTILLATIONS-MESSUNG

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
David Leschem
aus Haifa/Israel

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Referent: Prof. Dr. A. Herz

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22.2.1972

MEINER MUTTER

GETRENNTE BESTIMMUNG VON PHARMAKA UND IHREN METABOLITEN BEI DER SCINTILLATIONSMESSUNG

A. EINLEITUNG

B. METHODIK

1. UNTERSUCHUNGSVORGANG

2. TIERVERSUCHE

3. SCINTILLATIONSGEMISCHE UND MESSUNG

4. DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

5. BESTIMMUNG DER VERTEILUNGSKOEFFIZIENTEN

C. BEISPIELE UND DISKUSSION

1. HALOPERIDOL UND FENTANYL

2. MORPHIN

3. CHLORPROMAZIN

4. ETORPHIN

D. ZUSAMMENFASSUNG

E. LITERATRURVERZEICHNIS

EINLEITUNG

Die fortlaufende Bestimmung der Konzentration von Pharmaka in Körperflüssigkeiten, besonders im Blut, hat in den letzten Jahren zunehmend an Interesse gewonnen. Einige Aspekte, unter denen die Bestimmung des Blutspiegels bedeutsam wurde, sind: Studium der Invasion und Elimination von Pharmaka zur Errechnung genauer Dosierungspläne (KRÜGER-THIEMER 1967) oder Untersuchungen der Beziehungen zwischen Blutspiegel und pharmakologischer Wirkung (MAICKEL 1968; HOLLISTER-CLYDE 1968; BERKOWITZ u. Mitarb. 1969). Eine umfassende Darstellung der Aussagekraft von Blutspiegeluntersuchungen findet sich in DOST: Grundlagen der Pharmakokinetik.

Die Messung der Konzentration von Psychopharmaka im Blut bzw. Plasma erwies sich als besonders schwierig, weil diese Substanzen meist stark wirksam sind und daher nur in geringen Dosen gegeben werden können. Ihre Bestimmung erfordert im einzelnen aufwendige Methoden, die die routinemäßige Anwendbarkeit einschränken. (Vergleich SHEPERD, LADER u. RODNIGHT, 1968). Die Anwendung radioaktiv markierter Substanzen hat entscheidende Vorteile für die Empfindlichkeit der Meßmethoden gebracht (MAICKEL, 1968). Da die meisten Pharmaka im Organismus mehr oder weniger schnell umgebaut werden, ist nach wie vor eine Trennung der Ausgangssubstanzen von ihren Metaboliten nötig.

In dieser Arbeit werden Untersuchungen beschrieben, bei denen lipophile Ausgangssubstanzen neben ihren hydrophilen Metaboliten aufgrund ihres unterschiedlichen Lösungsverhaltens in Scintillationsflüssigkeiten getrennt bestimmt werden. Diese Messungen werden anhand von fünf verschiedenen Neuropharmaka mit dünnschichtchromatographischen Resultaten verglichen.

Tabelle 1

GEPRÜFTE SUBSTANZEN

	Radioaktive Markierung	Spez. Akt. der injezier. Substanz	Injektions-dosis i.v. (mg/kg)	Verteilungskoeffizient bei pH 7,4 Toluol/H_2O	Heptan/H_2O	Pharmakologische Wirkung
HALOPERIDOL	^3H am Fl-benzolring	2,6mC/mMol	1,0	22,3±3,9	2,84±0,47	Neuroleltikum
FENTANYL	^3H am Ben-zolring	1100,0mC/mMol	0,02	24,9±0,81	19,35	morphinartigwir wirkendes Analgetikum
MORPHIN	^{14}C an der Methylgruppe	0,39mC/mMol	5,0	*0,0085 ±0,0002	0,00001	Analgetikum
ETORPHIN	^3H am Piperidinring	222,0mC/mMol	0,001	4,96±0,12	1,42	morphinartig-wirkendes Analgetikum
CHLORPROMAZIN	^{35}S	26,3mC/mMol	1,0	132,3±37,1	385,8±48	Neuroleptikum

*gemessen bei pH 10,0

Haloperidol und Fentanyl wurden von JANSSEN, Pharmaceutics, Beerse, Belgien, Etorphin von RECKITT & SONS, Ltd., Hull, England zur Verfügung gestellt.
Morphine und Chlorpromazin wurden von Radiochemical Center, Amersham, England bezogen.

METHODIK

UNTERSUCHUNGSVORGANG

Neuro- und Psychopharmaka sind im allgemeinen lipophile Verbindungen. Die Stoffwechselvorgänge im Körper führen z.B. durch Glucuronisierung und Sulfatierung zu hydrophilen Derivaten, die dann durch die Nieren ausgeschieden werden können. Wenn der Unterschied zwischen Ausgangssubstanz und Metaboliten in der Lipoidlöslichkeit ausreichend groß ist, wird es möglich, sie in einem Wasser-Lipoid-Zweiphasensystem zu trennen. Die Untersuchung lief nach folgendem Schema:

1. Die Gesamtradioaktivität im Plasma wurde nach Lösung der Proben im Bray'scher Lösung (BRAY, 1960) direkt im Zählglas bestimmt. Im Prinzip kann auch ein anderes, in der Literatur beschriebens Verfahren angewandt werden (siehe Übersicht in PARMENTIER u. TEN HAAF, 1969, vergl. auch HOUTMAN, 1965, WHYMAN, 1970).

2. Messung der Plasmaproben in einem hydrophoben Flüssigkeitsscintillator. Hier wurde Toluol mit 4 g PPO pro Liter verwendet. Bei Zusatz von Plasma bilden sich im Zählglas zwei Phasen aus: am Boden die wässerige Phase und darüber eine klare Toluolphase. Es zeigte sich, daß die im Plasma enthaltenen Quenchstoffe und die meisten Metaboliten der Pharmaka in der wässerigen Phase blieben. Nur die lipoidlöslichen Substanzen wurden in Toluol aufgenommen und so der Messung zugeführt.

TIERVERSUCHE

Kaninchen beiderlei Geschlechts von ca. 3,0 kg Körpergewicht wurden in Pentobarbitalnarkose zwei Katheter angelegt. Einer war von der Art. femoralis aus einige cm in Richtung Aorta abdom. vorgeschoben, der zweite von der Mündung der Vena facialis in die rechte Vena jugularis externa aus, 6 cm in Richtung Herz vorgeschoben. Bei der Thoraxöffnung nach Versuchsende zeigte sich, daß die Katheterspitze meistens in oder unmittelbar vor dem rechten Vorhof des Herzens lag. So wurde mit diesem Katheter venöses Mischblut aus allen Körperregionen abgenommen. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach intravenöser Injektion der Substanzen (die Injektionsdauer betrug jeweils 30 Sek.) wurde Blut aus beiden Kathetern gleichzeitig abgenommen und mit 20 % einer 3,8%igen Natriumcitratlösung ungerinnbar gemacht.

SZINTILLATIONSGEMISCHE UND MESSUNG

Die Aktivitätsbestimmung der radioaktiven Substanzen wurde durch Flüssigkeitsscintillationsmessung in einem BECKMAN LS 150 - Scintillation System durchgeführt. Quenchkorrekturen erfolgten nach der External Standard Channel Ratio Method. Im einzelnen wurden die Proben in folgender Weise bereitet: 2 ml Citratblut wurden etwa zwei Tage im Kühlschrank bei 5°C aufbewahrt. Danach sind die Erythrocyten sedimentiert, und der Überstand betrug 1,2 ml Plasma. Je 0,5 ml wurde in 10 ml Bray'scher Lösung - BSC (BRAY, 1960) bzw. in 10 ml Toluol, das 4 g PPO/Lit. enthielt - TSC gemessen. Zur Eichung wurden definierte Mengen der jeweiligen Substanz mit 0,5 ml Citratplasma und Scintillationsflüssigkeiten im Zählglas aufgefüllt. Im fraglichen Konzentrationsbereich wurden lineare Beziehungen über vier Zehnerpotenzen erhalten. Die Ausbeute betrug in BSC für ^{3}H etwa 20%, in TSC etwa 30%.

DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

Um die gemessene Aktivität zu identifizieren, wurden Plasmaproben dünnschichtchromatographisch analisiert. Definierte Mengen Citratplasma wurden mit der fünffachen Menge Methanol extrahiert, zentrifugiert und der Überstand im Rotationsverdampfer konzentriert. Dieses Konzentrat erhielt 90% der ursprünglichen Citratplasmaaktivität.

Es wurden dann nichtmarkierte Carrier zugesetzt und 0,1 ml des Rückstandes auf der Dünnschichtplatte aufgetragen. Zur Beschichtung der Platte wurde Kieselgel G nach STAHL (MERCK AG, Darmstadt) mit Zusatz von 7% Leuchtstoff SS super (RIEDEL DE HAEN) verwendet. Die Schichtdicke betrug 0,5 mm, als Fliesmittel diente Chloroform:Methanol (85:15)in einer mit Ammoniak gesättigten Kammer. Nach der Chromatographie wurden die Platten mit Jodsublimat bedampft. Danach stellten sich alle Fleckenim UV-Licht bedeutend stärker dar und konnten fotografiert werden. Die Flecken wurden daraufhin einzeln abgekratzt und in 10 ml BSC auf Radioaktivität geprüft, nachdem sie etwa 4 Tage bis zum Abklingen der Chemoluminiszenz gestanden hatten.

BESTIMMUNG DER VERTEILUNGSKOEFFIZIENTEN

Es wurde die Verteilung der Verbindungen zwischen Toluol und o,13 molarem Phosphatpuffer bei pH 7,4 (nur bei Morphin Toluol/Puffer bei pH 10,0) bestimmt. Nach Schütteln der beiden Phasen - die Substanzen waren der wässerigen Phase zugesetzt worden - wurden die Substanzkonzentrationen mittels Flüssigkeitsscintillationszählung in jeder der beiden Phasen bestimmt. Eine Anreicherung in der Grenzfläche konnte ausgeschlossen werden; Änderungen der Phasenvolumenverhältnisse hatten keine indiesem Zusammenhang nennswerte Verschiebungen der Verteilungskoeffizienten zur Folge.

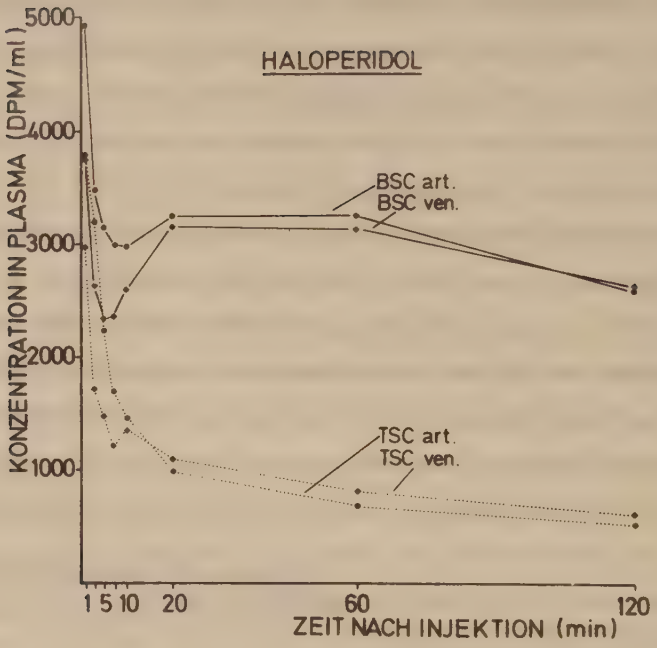

Abb. 1

Der zeitliche Radioaktivitätsverlauf im Plasma im arteriellen (art) und venösen (ven) Blut nach einer i.v.-Injektion von 1 mg/kg ^{3}H-Haloperidol. Mittelwerte aus 8 Tierversuchen.

BSC - Messung im Bray'schen Scintillator

TSC - Messung im Toluol PPO Scintillator

DPM - disintegrations pro minute

Tabelle 2

H A L O P E R I D O L

Min. nach Injektion	BSC DPM/ml ± SA	TSC DPM/ml ± SA	TSC/BSC % ± SA	TLC % ± SA
1	4939 ± 1046	3800 ± 1010	77 ± 4	--
3	3488 ± 238	3200 ± 4466	65 ± 5	70 ± 2
20	3229 ± 362	975 ± 116	32 ± 3	30 ± 1
60	3247 ± 248	675 ± 90	24 ± 4	30 ± 4
120	2570 ± 396	518 ± 44	22 ± 2	22 ± 1

Verleiche der Ergebnisse der Flüssigkeitsscintillationszählung und der Dünnschichtchromatographie bei Haloperidol.

DPM - disintegrations pro minute
BSC - Messung in Bray'schem Scintillator
TSC - Messung in Toluol PPO Scintillator
TSC/BSC - Verhältnis der in beiden Gemischen gemessenen Aktivität
TLC - Anteil des Haloperidolfleckes an der Gesamtaktivität der Bahn bei der Dünnschichtchromatographie
SA - Standardabweichung

Die TSC/BSC-und TLC-Ergebnisse sind Mittelwerte aus arteriellen und venösen Blutproben.

BEISPIELE UND DISKUSSION

HALOPERIDOL UND FENTANYL

Abb. 1 zeigt den Aktivitätsverlauf im Plasma nach intravenöser Injektion von 1 mg/kg ^{3}H Haloperidol, gemessen in beiden Scintillationsgemischen. Eine Minute nach Ende der Injektion werden etwa 85% der in BSC gemessenen Radioaktivität auch in TSC erfaßt, Der Anteil nimmt dann ab bis zu etwa 20% nach 2 Stunden. In BSC wird schon nach den ersten Minuten immer eine höhere Konzentration gemessen als in TSC. Bei den meisten Substanzen zeigt sich nach anfänglichem Abfall ein Wiederanstieg der Konzentration, meistens jedoch ein Plateau. Steilheit des anfänglichen Abfalls, Zeitpunkt des Wiederanstiegs und Maximum, sowie Breite des Gipfels sind von Substanz zu Substanz verschieden.

Die in TSC gemessene Aktivität zeigt keine derartigen Besonderheiten; sie fällt in den ersten 20 Minuten rasch, später langsamer ab. Erklärung dafür s. HESS et al 1971a.

In Abb. 1 ist der Konzentrationsverlauf im arteriellen und venösen System getrennt dargestellt. In den ersten Minuten nach Injektion zeigt sich eine Differenz zwischen beiden Systemen. Eine solche fand sich auch bei einigen anderen Substanzen. Zur Diskussion der AV-Differenz im Falle Fentanyl siehe HESS et al, 1971.

In Tabelle 2 ist das Verhältnis der in beiden Zählflüssigkeiten jeweils gemessenen Aktivität mit dem Ergebnis der Dünnschichtchromatographie verglichen. Es ist die in den Chromatogrammen jeweils als unverändert gefundene Substanz in % der jeweiligen Gesamtaktivität wiedergegeben. Der Vergleich zeigt, daß das Verhältnis der Aktivitäten TSC/BSC mit dem Verhältnis Haloperidol/Gesamtaktivität aus der Chromatographie gut übereinstimmt.

Tabelle 3

F E N T A N Y L

Min. nach Injektion	BSC DPM/ml ± SA	TSC DPM/ml ± SA	TSC/BSC % ± SA	TLC % ± SA
1	17606 ± 7650	16900 ± 6520	96 ± 3	--
3	9630 ± 4050	8285 ± 4266	80 ± 4	80 ± 3
10	8777 ± 620	2763 ± 410	33 ± 4	40 ± 4
20	10654 ± 356	1625 ± 405	15 ± 4	24 ± 4
60	5751 ± 538	999 ± 240	18 ± 2	20 ± 2
120	3202 ± 960	608 ± 152	22 ± 1	22 ± 4

Ergebnisse, die bei Fentanyl gewonnen wurden.

Erläuterungen der Abkürzungen s. Tab. 2

Tabelle 4

M O R P H I N

Min. nach Injektion	BSC DPM/ml ± SA	TSC DPM/ml ± SA	TSC/BSC % ± SA	TLC % ± SA
0,5	51000 ± 5100	40680 ± 9200	78 ± 3	83 ± 7
2	31600 ± 12800	13800 ± 3500	45 ± 2	43 ± 2
5	49900 ± 6400	7310 ± 1900	21 ± 5	14 ± 5
10	34800 ± 3800	7520 ± 70	22 ± 2	16 ± 2
30	28900 ± 9000	4100 ± 1900	13 ± 4	8 ± 4
60	20400 ± 5800	2700 ± 900	13 ± 4	4 ± 3
120	8450 ± 4200	1270 ± 800	13 ± 2	4 ± 2

Ergebnisse, die bei Morphin gewonnen wurden.

Erläuterung der Abkürzungen s. Tab. 2

Tabelle 3 zeigt die bei Fentanyl gewonnen Ergebnisse. Auch hier findet sich eine befriedigende Übereinstimmung zwischen Quotient TSC/BSC mit dem Ergebnis der Chromatographie. Für Fentanyl konnte gezeigt werden, daß nach funktioneller Ausschaltung der Leber durch Exenteration identische Konzentrationsverläufe mit beiden Scintillationsgemischen gemessen werden (s. HESS et al, 1971a).

Der VK Toluol/Wasser dieser Substanzen ist so hoch, daß bei dem von uns angewandten Phasenverhältnis praktisch alle Substanzen in Toluol übergeht (s. Tabelle 1). Andererseits sind die Metaboliten offenbar so hydrophil, daß sie vollständig in der wässerigen Phase bleiben. Nur so läßt sich die Übereinstimmung mit der Dünnschichtchromatographie erklären.

MORPHIN

Besondere Probleme ergaben sich bei Morphin. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß der VK Toluol/Wasser bei Morphin sehr klein ist. Um sicher zu sein, daß alle Moleküle in nicht ionisiertem Zustand vorliegen, haben wir den pH-Wert der Plasmaproben auf 10,0 und das Verhältnis Plasma/Toluol auf 1/200 eingestellt. Danach erhielten wir konstante Meßergebnisse und im fraglichen Konzentrationsbereich eine lineare Eichkurve. Tabelle 4 zeigt, daß der dünnschichtchromatographisch ermittelte Anteil an Morphin an der Gesamtaktivität in den ersten Minuten nach Injektion mit dem Verhältnis TSC/BSC gut übereinstimmt. Eine größere Abweichung zeigt sich nach längerem Versuchsverlauf. Das Verhältnis TSC/BSC bleibt etwa bei 13%, während der chromatographisch ermittelte Anteil an Morphin weiter absinkt.

Tabelle 5

ÜBERSTRAHLUNGSEFFEKT IM WASSER-TOLUOL-SYSTEM

	$^{3}H_2O$ (%) ± SA	^{3}H-Decamethonium (%) ± SA	^{14}C-Hexamethonium (%) ± SA	^{14}C-D-Tubocurarin (%) ± SA
Testaktivität in 0,05 ml wäss. Phase	18,8 ± 0,6	26,7 ± 2,0	14,0 ± 2,2	22,5 ± 3,8
Testaktivität in 0,5 ml wäss. Phase	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,1	2,9 ± 0,3	11,1 ± 1,2
10-fache Testaktivität in 0,5 ml wäss. Phase	2,0 ± 0,1	6,3 ± 0,7	2,2 ± 0,3	6,2 ± 1,5

§ Im TSC gemessene Aktivität in % der Gesamtaktivität

(Erläuterungen s. Text)

Tabelle 6

C H L O R P R O M A Z I N

Min. nach Injektion	BSC DPM/ml ± SA	TSC DPM/ml ± SA	TSC/BSC % ± SA	TLC % ± SA
1	794 ± 30	745 ± 86	83 ± 7	60 ± 20
3	644 ± 20	428 ± 21	63 ± 3	39 ± 10
7	585 ± 67	331 ± 16	53 ± 3	24 ± 2
10	675 ± 68	392 ± 14	44 ± 1	14 ± 1
20	630 ± 34	263 ± 14	42 ± 1	7 ± 1
120	495 ± 34	169 ± 2	44 ± 5	-- --

Ergebnisse, die bei Chlorpromazin gewonnen wurden.

Erläuterung der Abkürzungen s. Tab. 2

Für dieses falsche, zu hohe Ergebnis lassen sich vor allem zwei Erklärungsmöglichkeiten anführen: a) Lösung eines geringen Teils der Metaboliten im TSC. b) Überstrahlung vom in der wässerigen Phase gelösten Isotop in die Lipoidphase. Es wurde daher die in TSC zu messende Aktivität vom tritiertem Wasser und einigen ^{3}H und ^{14}C markierten, stark hydrophilen Substanzen untersucht. Tabelle 5 zeigt, daß der in TSC zu messende Anteil an der zugesetzten Aktivität unabhängig vom Isototp ist und daß er bei einer wässerigen Phase von 0,5 ml sicher unter 10% liegt. Selbst wenn das Volumen der wässerigen Phase auf 0,05 reduziert wurde, wurden weniger als 30% in TSC gemessen. Diese Ergebnisse sprechen mehr für Lösung eines begrenzten Wasservolumens in TSC als für Überstrahlung aus der wässerigen Phase in die Lipoidphase.

CHLORPROMAZIN

Tabelle 6 zeigt die mit beiden Methoden gewonnen Ergebnisse für Chlorpromazin (CPZ). Hierbei findet man, daß der mit Dünnschichtchromatographie bestimmte prozentuelle Anteil von CPZ am Plasmaspiegel viel schneller abfällt als das Verhältnis TSC/BSC. Da Überstrahlung aus der wässerigen Phase bei dem verwandten Volumen nicht mehr als 10% ausmachen kann (s. Tab. 5), ist zu vermuten, daß ein lipophiler Metabolit von CPZ in TSC mitgemessen wurde. Aufgrund von ähnlichen RF-Werten von CPZ und Sulfoxyd nahmen wir an, daß es sich um das Sulfoxyd handelt. EFRON beschreibt allerdings in seiner Nachweismethode für CPZ, daß er nach Extraktion von Plasma mit Heptan die Demethylierungsprodukte des CPZ zusammen mit CPZ in der Heptanphase findet, während das Sulfoxyd in der wässerigen Phase bleibt. Das Beispiel des CPZ zeigt jedenfalls, daß ein zu geringer Unterschied in der Lipoidlöslichkeit zwischen Ausgangssubstanz und Metaboliten zu unbefriedigenden Ergebnissen führt.

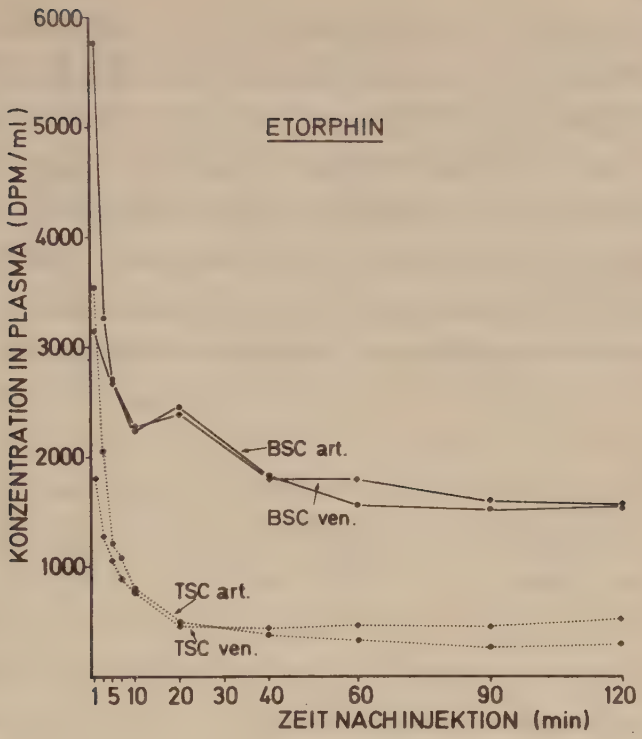

Abb. 2

Zeitlicher Radioaktivitätsverlauf im Plasma im arteriellen (art) und venösen (ven) Blut nach einer i.v.-Injektion von 0,001 mg/kg ^{3}H-Etorphin. Mittelwerte aus 3 Tierversuchen.

BSC - Messung im Bray'schen Scintillator

TSC - Messung im Toluol PPO Scintillator

DPM - disintergrations pro minute

Verhältnis TSC/BSC:

bei	1 min	3 min	10 min.	20 min.	60 min.	120 min.
%	60 $\pm$ 6	54 $\pm$ 4	35 $\pm$ 3	20 $\pm$ 3	23 $\pm$ 3	23 $\pm$ 4

ETORPHIN

Abb. 2 zeigt den Radioaktivitätsverlauf in Plasma nach Injektion von ^{3}H Etorphin - ein extrem starkes, morphinähnliches Analgeticum. Der zeitliche Verlauf der Kurven ist ähnlich dem von Morphin (vergl. Abb. 2 und Tab. 4). Dies erklärt sich durch die gleichartige Metabolisierung, nämlich Glukoronisierung an der phenolischen OH-Gruppe an C 3 (WAY-ADLER, 1962; DOBBS-HALL, 1969). Etorphin selbst ist wesentlich lipophiler als Morphin, was die direkte Messung in TSC ohne weiteren Angleich ermöglichte.

ZUSAMMENFASSUNG

Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war, zu prüfen, in wieweit bei der Konzentrationsbestimmung radioaktiv markierter Substanzen mittels der Flüssigkeitsscintillationszählung durch Verwendung von Zählflüssigkeiten unterschiedlichen Lösungsvermögens eine Auftrennung von lipophilen Ausgangssubstanzen und hydrophilen Stoffwechselprodukten möglich ist.

Folgende radioaktiv markierte Substanzen wurden verwendet: Fentanyl, Haloperidol. Chlorpromazin, Morphin und Etorphin. Die Substanzen wurden Kaninchen i.v. appliziert und zu verschiedenen Zeitpunkten nach Injektion wurde Blut entnommen. Die Aktivität von Plasmaproben wurde sowohl in Bray'scher Lösung als auch in einem Toluol-PPO-Scintillatorgemisch gemessen. Die in Bray'scher Lösung gemessene Aktivität entspricht der Gesamtaktivität, da in diesem hydrophilen Gemisch auch die Stoffwechselprodukte gelöst werden. In dem stark lipophilen Toluol-Gemisch wurden nur die lipophilen Ausgangssubstanzen, nicht aber deren hydrophile Stoffwechselprodukte aufgenommen. Dies konnte für Fentanyl und Haloperidol durch Vergleich mit den Ergebnissen der Dünnschichtchromatographie gezeigt werden.

Bei dem relativ hydrophilen Morphin ist es durch Wahl geeigneter Volumenverhältnisse und pH-Änderung möglich, eine befriedigende Auftrennung zu erreichen. Bei Chlorpromazin ergab sich keine befriedigende Auftrennung von Ausgangssubstanz und Stoffwechselprodukten.

Die Überstrahlungseffekte bei ^{3}H und ^{14}C wurden gemessen.

Die Brauchbarkeit dieser Methodik und ihre Grenzen werden diskutiert.

LITERATURVERZEICHNIS

BERKOWITZ, B.A. and J.H. ASLING, S.M. SHNIDER and E.L. WAY: Relationship of pentacocine plasma levels to pharmacological activity in men. Clin. pharmacol. and Ther. 10, 320-327 (1969)

BRAY, G.A.: A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. Analytical Biochem. 1, 279-285 (1960)

DOBBS, H. E. and HALL, J.M.: Metabolism and biliary excretion of etrophine (M99-RECKITT) - An extremely potent morphine-like drug. Proc. Europ. Soc. for the Study of Drug Toxicity. 10, 77-86 (2969)

DOST? F.H.: Grundlagen der Pharmakokinetik G. Thieme Verlag, Stuttgart (1968)

EFRON, D.H.: Levels of psychotropic drugs in plasma and their action in man. Pharmac. and clin. Significance of phamacokinetics Schattauer Verlag, Stuttgart - N.Y. (1969)

HAYES, A. and R.G. COOPER: Studies on absorption, distribution and excretion of propanolol in rat, dog and monkey J. of pharmac. exp. Ther. 176, 302-311 (1971)

HESS R. and A. HERZ and K. FRIEDEL: Pharmacokinetics of fentanyl in rabbits in view of the importance for limiting the effect. submitted to pharmacol. exp. Ther. (1971, a)

HESS R., G. STIEBLER and A. HERZ: Pharmacokintic aspects of fentanyl action in man in comparison with rabbits J. of pharmacol. exp. Ther. (1971,b)

HOLLISTER L.E. and D.J. CLYDE: Blood levels of pentobarbital sodium meprobamate and tybamate in relation to clinical effects. Clin. Pharmacol. and Ther. 9, 204-208 (1968)

HOUTMAN A.C.: Liquid scintillation counting of blood

./.

Int. J. of Applied Radiation and Isotopes, 16, 65-70 (1965)

KRÜGER-THIEMER?E.: Application of kinetic analyses for calculation of dosage regimens. In: Pharmacol. Techniques in Drug Evaluation Vol. 2, Siegler and Moyer (Eds). Year Book Med. Publishers Inc. Chicago (1967)

MAICKEL R.P.: The use of labelled drugs in psycophamacology research. Advances in Tracer Methodology, Vol.4 Rothschild (Ed) Plenum Press, N.Y. 177-186 (1968)

PARMENTIER J.H. and F.E.L. TEN HAAF: Developments in liquid scintillation counting since 1963 Int. J. of Appl. Radiation and Isotopes, 20 305-334 (1969)

SHEPERD. M. M. ADER and R. RODNIGHT: Clinical psychopharmacology The English Unversity Press Ltd. S. 13 (1968)

WAY E.L. and T.K. ADLER: The biological disposition of morphine and its surrogates Bull. WHO, 25, 227-262 (1961)

WHYMAN A.E.: Measurement of tritium in neat plasma and urine with a toluene/triton X-100/Hyamine 10-X Scintillant Int. J. of Applied Radiation and Isotopes 21, 81-86 (1970)

Herrn Professor Dr. G. P E T E R S, Direktor des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie (Deutsche Forschungsanstalt für Psychiatrie) danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut.

Für seine großzügige Hilfestellung bei der Erstellung der gesamten Arbeit danke ich Herrn Dr. R. H E S S aufrichtig.

Meinen besonderen Dank spreche ich Herrn Professor Dr. A. H E R Z, der durch seinen Beistand bei der Lösung fachlicher ebenso wie persönlicher Fragen zum Gelingen der Arbeit wesentlich beitrug, aus.

Sehr herzlich danke ich Frau Ziegelgensberger für ihre freundliche und vielseitige Hilfe.

Lebenslauf

Am 29. November 1943 wurde ich als 2. Sohn des Beamten Moshe Leschem und seiner Ehefrau Hella, geborene Wolf, in Haifa/Israel geboren.

1949-1957 besuchte ich die Volksschule in Haifa. Nach anschließenden 4 Jahren Gymnasium legte ich 1961 an der Chugim-Oberschule in Haifa die Reifeprüfung ab.

1961-1964 diente ich im israelischen Militär.

Im Winter 1964 wurde ich an der Universiät München immatrikuliert, wo ich im Frühjahr 1968 die ärztliche Vorprüfung und im Sommer 1971 das medizinische Staatsexamen ablegte.